

**WOUND COATING MATERIAL**

Patent number: JP11319066  
Publication date: 1999-11-24  
Inventor: KUROYANAGI TAKAMITSU  
Applicant: MITSUBISHI CHEM CORP  
Classification:  
- International: A61L15/44; A61L15/64; C08B37/08; A61L15/16; C08B37/00; (IPC1-7): C08B37/08; A61L15/44; A61L15/64  
- european:  
Application number: JP19980127573 19980511  
Priority number(s): JP19980127573 19980511

**AQ****BEST AVAILABLE COPY****Report a data error here****Abstract of JP11319066**

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a wound coating material utilizing a physiologically active substance with which curing of such a wound as a failure of the skin can be conveniently and effectively performed. SOLUTION: A wound coating material consists of a constitution contg. a crosslinked hyaluronic acid sponge material with a crosslinked hyaluronic acid sponge layer obtid. by freeze-vacuum drying of an intermolecular crosslinked substance of hyaluronic acid and/or its deriv. and a physiologically active substance. In addition, this physiologically active substance is pref. incorporated into the crosslinked hyaluronic acid sponge material when it is used.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平11-319066

(43)公開日 平成11年(1999)11月24日

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

識別記号

F I

A 6 1 L 15/44

A 6 1 L 15/03

15/64

C 0 8 B 37/08

Z

// C 0 8 B 37/08

A 6 1 L 15/04

審査請求 未請求 請求項の数7 O L (全8頁)

(21)出願番号 特願平10-127573

(22)出願日 平成10年(1998)5月11日

(71)出願人 000005968

三菱化学株式会社

東京都千代田区丸の内二丁目5番2号

(72)発明者 黒柳 能光

神奈川県座間市小松原一丁目6番9-701

号ライオンズマンション南林間第5

(74)代理人 弁理士 遠山 勉 (外2名)

(54)【発明の名称】 創傷被覆材

(57)【要約】

【課題】 皮膚欠損創等の創傷の治療を簡便かつ有効に行うことが可能な、生理活性物質利用の創傷被覆材を提供する。

【解決手段】 創傷被覆材をヒアルロン酸および/またはその誘導体の分子間架橋物を凍結真空乾燥させて得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ層を有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質とを含む構成とし、好ましくは、使用時に前記生理活性物質を架橋ヒアルロン酸スポンジ材料に含有させる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を凍結真空乾燥させて得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ層を有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質とを含む創傷被覆材。

【請求項2】 架橋ヒアルロン酸スポンジ層が、下記(A)～(D)工程を含む製造方法により得られる架橋ヒアルロン酸スポンジからなる請求項1記載の創傷被覆材：

(A) ヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液に架橋剤を混合し、得られる混合物を濃縮して、前記ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を得る工程、(B) 前記(A)工程で得られた分子間架橋物を凍結真空乾燥させる工程、(C) 前記(B)工程後の分子間架橋物をアルコールで洗浄した後、さらに、水で洗浄する工程、(D) 前記(C)工程後の分子間架橋物を再び凍結真空乾燥して架橋ヒアルロン酸スポンジを得る工程。

【請求項3】 (A)工程で用いる架橋剤が水溶性エボキシ化合物である請求項2記載の創傷被覆材。

【請求項4】 (C)工程で用いるアルコールがメタノールである請求項2記載の創傷被覆材。

【請求項5】 前記架橋ヒアルロン酸スポンジ材料が、架橋ヒアルロン酸スポンジからなる二つの層と、前記架橋ヒアルロン酸スポンジ層の層間に積層されたポリマーメッシュ層とを有する請求項1記載の創傷被覆材。

【請求項6】 ポリマーメッシュ層が、100～300メッシュのメッシュ幅を有する、ポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステルから選ばれる素材のポリマーメッシュからなる請求項5記載の創傷被覆材。

【請求項7】 架橋ヒアルロン酸スポンジ層が生理活性物質を含有してなる請求項1～6のいずれか1項に記載の創傷被覆材。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は創傷被覆材に関し、詳しくは、皮膚欠損創等の創傷の治療を簡便かつ有効に行うことが可能な、生理活性物質利用の創傷被覆材に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 皮膚欠損創等の創傷の治療として生理活性物質含有軟膏の適用は優れた臨床効果を発現することが知られている。しかし、一般に軟膏療法は頻繁に包帯交換を必要とするために患者の苦痛ならびに医療従事者の負担が大きい点で問題であった。そこで、生理活性物質による創傷治療におけるこれらの問題点を改善し、さらに創傷の治癒を効果的に促進できる、生理活性物質の新規な投与形態の開発が望まれていた。

## 【0003】 一方、ヒアルロン酸は、動物組織の細胞間

10

20

30

30

40

50

質に多く、具体的には、眼硝子体、臍帶、関節液、皮膚、軟骨、その他の結合組織に存在するムコ多糖の一つであり、ヒアルロン酸およびその誘導体は水溶液やゲルの形態で、眼科手術の助剤や外科手術後の組織の癒着を防止するための組成物として医療用途で幅広く利用されている。また、近年、ヒアルロン酸の新たな使用形態として、特公平7-30124号公報等に記載されているような、スポンジ構造の架橋ヒアルロン酸成形物が開発されている。しかしながら、上記生理活性物質をヒアルロン酸ゲルや成形物と組み合わせて、創傷の治療を行おうという試みについては、これまでに全く報告されていない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、上記観点からなされたものであり、皮膚欠損創等の創傷の治療を簡便かつ有効に行うことが可能な、生理活性物質利用の創傷被覆材を提供することを課題とする。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記課題を解決するために銳意研究を行ったところ、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質を組み合わせて用いることにより、皮膚欠損創等の創傷の治療を簡便かつ有効に行うことが可能であることを見出し、さらに、生理活性物質と組み合わせて効果的に創傷の治療が行える架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を新たに作製することに成功し、本発明を完成させた。

【0006】 なお、本明細書において「スポンジ」の用語は、独立気泡あるいは連続気泡を有する多孔質体について用いられる。

【0007】 すなわち本発明は、ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を凍結真空乾燥させて得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ層を有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質とを含む創傷被覆材である。

【0008】 本発明の創傷被覆材に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料が有する架橋ヒアルロン酸スポンジ層は、具体的には、下記(A)～(D)工程を含む製造方法により得られる架橋ヒアルロン酸スポンジから構成することが可能である。

(A) ヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液に架橋剤を混合し、得られる混合物を濃縮して、前記ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を得る工程、(B) 前記(A)工程で得られた分子間架橋物を凍結真空乾燥させる工程、(C) 前記(B)工程後の分子間架橋物をアルコールで洗浄した後、さらに、水で洗浄する工程、(D) 前記(C)工程後の分子間架橋物を再び凍結真空乾燥して架橋ヒアルロン酸スポンジを得る工程。

【0009】 また、上記架橋ヒアルロン酸スポンジの製造方法において(A)工程で用いる架橋剤として、具体

的には、水溶性エポキシ化合物が挙げられる。さらに、上記架橋ヒアルロン酸スポンジの製造方法において(C)工程で用いるアルコールとして、具体的には、メタノールが挙げられる。

【0010】また、本発明の創傷被覆材に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料として、具体的には、架橋ヒアルロン酸スポンジからなる二つの層と、前記架橋ヒアルロン酸スポンジ層の層間に積層されたポリマーメッシュ層とを有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料が挙げられる。

【0011】さらに、上記架橋ヒアルロン酸スポンジ材料が有するポリマーメッシュ層は、具体的には、100～300メッシュのメッシュ幅を有する、ポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステルから選ばれる素材のポリマーメッシュから構成することができる。

【0012】本発明の創傷被覆材において、生理活性物質は、具体的には、架橋ヒアルロン酸スポンジ層に含有されるかたちで用いることが可能である。

【0013】

【発明の実施の形態】以下に、本発明の創傷被覆材について具体的に説明する。まず、本発明の創傷被覆材が有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料について説明する。

(1) 本発明に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料  
本発明の創傷被覆材に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は、ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を真空凍結乾燥させて得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ層を有するものである。以下、架橋ヒアルロン酸スポンジ、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の順に説明する。

#### (i) 架橋ヒアルロン酸スポンジ

上記架橋ヒアルロン酸スポンジ層を構成する架橋ヒアルロン酸スポンジは、より具体的には、原料のヒアルロン酸および／またはその誘導体とこれらを架橋させることができ可能な架橋剤とを水性溶媒中で反応させて分子間架橋物とし、適切な条件下で凍結真空乾燥することにより得られる。原料として用いるヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子量は、特に限定されるものではないが、具体的には、平均分子量が好ましくは50万～200万程度のものが、より好ましくは150万～200万程度のものが挙げられる。

【0014】また、ヒアルロン酸の誘導体としては、ヒアルロン酸ナトリウム塩、ヒアルロン酸カリウム塩等のヒアルロン酸金属塩や、ヒアルロン酸のヒドロキシリ基、カルボキシリ基等がエーテル化、エステル化、アミド化、アセタール化、ケタール化されて得られるヒアルロン酸誘導体等が挙げられる。これらのヒアルロン酸誘導体のうちでも、本発明においては、ヒアルロン酸ナトリウムが好ましく用いられる。

【0015】この様なヒアルロン酸および／またはその

誘導体は、従来公知の方法で製造することが可能である。あるいは、ヒアルロン酸およびその誘導体については市販品も多いので、これら市販品を本発明に用いることも可能である。

【0016】上記架橋剤としては、上述のヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子を架橋させる作用を有するものであれば特に制限されず、例えば、エーテル、エステルもしくはアミド結合を生じる二官能性または多官能性の従来公知の架橋剤を用いることが可能である。

10 【0017】ヒアルロン酸および／またはその誘導体と架橋剤とを水性溶媒中で反応させて分子間架橋物とする方法についても、従来公知の方法が適用され得る。また、得られた分子間架橋物の乾燥方法については、凍結真空乾燥法が用いられるが、これについても従来公知の方法が特に制限されずに適用可能である。

【0018】この様にして得られる架橋ヒアルロン酸スポンジが特に制限なく本発明に用いられるが、(A)ヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液に架橋剤を混合し、得られる混合物を濃縮して、前記ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を得る工程

20 (以下、「架橋化工程」という)、(B)前記(A)工程で得られた分子間架橋物を凍結真空乾燥させる工程(以下、「第1の凍結真空乾燥工程」という)、(C)前記(B)工程後の分子間架橋物をアルコールで洗浄した後、さらに、水で洗浄する工程(以下、「洗浄工程」という)、および、(D)前記(C)工程後の分子間架橋物を再び凍結真空乾燥して架橋ヒアルロン酸スポンジを得る工程(以下、「第2の凍結真空乾燥工程」という)を含む製造方法により得られる架橋ヒアルロン酸スポンジが、本発明においてより好ましく用いられる。以下、(A)～(D)工程についてその詳細を説明する。

#### (A) 架橋化工程

本発明に好ましく用いられる架橋ヒアルロン酸スポンジを製造する際には、まずヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液と架橋剤を混合、濃縮して、前記ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を得る。

【0019】この製造方法で用いるヒアルロン酸および／またはその誘導体については、上述したのと同様なものを使用することができます。本工程では、この様なヒアルロン酸および／またはその誘導体を適当量の水に溶解した水溶液がまず作製される。前記水溶液におけるヒアルロン酸および／またはその誘導体の濃度は、用いるヒアルロン酸および／またはその誘導体の種類や分子量等にもよるが、概ね0.5～1.5重量%、好ましくは1.0～1.5重量%程度とすることができる。また、溶媒として用いる水としては、pH5～6のイオン交換水が好ましい。

【0020】次いで、ヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液に、架橋剤が添加混合される。本製造方

法において用いる架橋剤は、ヒアルロン酸および／またはその誘導体を分子間架橋させる作用を有するものであって、後の（C）洗浄工程におけるアルコール好ましくはメタノールを用いた洗浄によって十分に除去可能なものであれば特に制限されない。この様な架橋剤として、具体的には、水溶性エポキシ化合物、グルタルアルデヒド等が挙げられるが、本発明において好ましくは、水溶性エポキシ化合物が用いられる。

【0021】水溶性エポキシ化合物として、具体的には、エチレングリコールジグリシルエーテル、グリセロールジグリシルエーテル、グリセロールトリグリジルエーテルなどが挙げられる。架橋剤として水溶性エポキシ化合物を用いた場合、ヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液に添加される水溶性エポキシ化合物の量は、ヒアルロン酸および／またはその誘導体の繰り返し単位1モルに対して概ね $1/2 \sim 1/10$ モルの割合であることが好ましく、より好ましくは $1/5 \sim 1/10$ モル程度、特に好ましくは $1/5$ モル程度の添加量である。

【0022】上記ヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液への架橋剤の添加混合により、ヒアルロン酸および／またはその誘導体は分子間架橋するが、分子間架橋反応を促進するために、混合液を必要に応じて攪拌しながら加熱することが好ましい。加熱温度は、架橋剤として水溶性エポキシ化合物を用いた場合には、約30～60°Cが好ましく、より好ましい温度は、約40～60°Cであり、特に好ましい温度は約50°Cである。60°Cを越えるような高い温度で加熱すると混合液に気泡が生じ、得られる架橋ヒアルロン酸スポンジの構造の均一性が十分でない場合がある。30°Cより低い温度では、分子間架橋反応速度が小さくなり、所望の濃度の分子間架橋物を得るのに長時間を要することがある。

【0023】この様にして、上記混合液を加熱することにより、混合液中ではヒアルロン酸および／またはその誘導体の架橋剤、好ましくは、水溶性エポキシ化合物による分子間架橋が進み、混合液は濃縮されて、ヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物が得られる。本製造方法におけるヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を得るために、用いるヒアルロン酸および／またはその誘導体の水溶液における溶質濃度や、架橋剤の種類、添加量等にもよるが、架橋剤として水溶性エポキシ化合物を用いた場合には、前記混合液を概ね体積が初期体積の $1/2 \sim 1/10$ になるまで濃縮することが好ましい。さらに、得られる架橋ヒアルロン酸スポンジの機械的強度を考慮すれば、混合液は初期体積の $1/5$ 程度まで濃縮することがより好ましい。

【0024】上記の様に濃縮されて得られたヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物を以下の（B）工程（第1の凍結真空乾燥工程）に用いる。

【0025】なお、ここで得られるヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の形状で、最終的な架橋ヒアルロン酸スポンジが得られるので、この工程で分子間架橋物を所望の形状に成形することが好ましい。具体的には、シート状、棒状等の形状が挙げられる。

#### (B) 第1の凍結真空乾燥工程

本製造方法においては、上記（A）工程で得られたヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物は、次いで凍結真空乾燥される。凍結真空乾燥の条件は大きく10な氷の結晶を形成させないために、約-30～-85°C、好ましくは、約-50～-85°C、より好ましくは、-85°C程度の温度で急速冷凍される。真空条件は、50～5mmHg程度が好ましく、より好ましくは10～5mmHg程度である。

【0026】凍結真空乾燥処理の時間は、凍結真空乾燥装置の大きさやヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の量や形状に依存するので、それらに合わせて適宜選択すればよい。

#### (C) 洗浄工程

20 上記（B）工程で得られたヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の乾燥物は、次いで、未反応の架橋剤を除去するためにアルコールで洗浄される。用いるアルコールとしては特に制限されないが、具体的には、メタノール、エタノール、プロパンノール、ブタノール等が挙げられるが、本発明において好ましくは、メタノールが挙げられる。

【0027】洗浄方法としては、上記未反応の架橋剤が除去できる方法であれば制限されないが、具体的な洗浄方法として、上記分子間架橋物の乾燥物に対して十分量、例えば、容量で $10 \sim 50$ 倍量のアルコールに、上記分子間架橋物の乾燥物を浸漬し、必要に応じて攪拌や振盪を加えながら適当な時間、例えば、12～24時間放置する方法等が挙げられる。また、この様なアルコールによる洗浄を、必要に応じて、2回以上行ってよい。

【0028】この様にしてアルコールにより、上記分子間架橋物の乾燥物を洗浄することにより、未反応の架橋剤を完全に除去することが可能となり、さらに第2の凍結真空乾燥の工程後に得られる架橋ヒアルロン酸スポンジの最終形態が良好となり、構造も強固なものとなり得る。また、アルコール洗浄後の分子間架橋物自身、強度的に優れるものであり、次いで行われる水による洗浄によってヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の形状が破壊されるようになる。

【0029】上記アルコール洗浄後のヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物は、次いで、必要に応じて分子間架橋物中のアルコールを適当な方法で除去した後、水で洗浄される。用いる水としては中性のイオン交換水が好ましい。この水での洗浄は、水溶性の未

反応物の抽出除去と、この後行われる第2の凍結真空乾燥工程を円滑に行うためにアルコールを完全に排除することを目的として行われる。水での洗浄方法については、上記アルコール洗浄と同様にして行うことができる。例えば、上記アルコール洗浄後の分子間架橋物を十分量の、具体的には、容量で10～30倍量の水に浸漬し、必要に応じて攪拌や振盪を加えながら適当な時間、例えば、12～24時間放置する方法等が挙げられる。また、この様な水による洗浄を、必要に応じて、2回以上行ってもよい。

【0030】なお、前記水洗浄後のヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物は、水分を含んで膨潤した状態のものである。

#### (D) 第2の凍結真空乾燥工程

本製造方法においては、上記(C)工程で得られたヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の水膨潤物は、次いで凍結真空乾燥される。凍結真空乾燥の条件は、上記(B)工程における第1の凍結真空乾燥の条件と同様とすることができる。凍結真空乾燥処理の時間は、凍結真空乾燥装置の大きさやヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の量や形状に依存するので、それらに合わせて適宜選択すればよい。

【0031】この様にして上記(C)工程で得られたヒアルロン酸および／またはその誘導体の分子間架橋物の水膨潤物が凍結真空乾燥されることで、本製造方法による架橋ヒアルロン酸スポンジが得られる。

【0032】この様な製造方法により得られる架橋ヒアルロン酸スポンジは、上記(A)工程で分子間架橋した際の含水状態の形状を維持したまま水分が十分に除去されたものであるので空隙率が十分に高く、さらにアルコールによる洗浄と水による洗浄によって未反応の原料成分、具体的には水溶性エポキシ化合物等の架橋剤等を除去しているので、医療用具としての安全性等に優れるものである。

#### (i) 架橋ヒアルロン酸スポンジ材料

本発明の創傷被覆材に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は、上記(i)で説明した架橋ヒアルロン酸スポンジからなる層を有するものである。

【0033】本発明に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料としては、上記の様な架橋ヒアルロン酸スポンジ層を有するものであれば、他の構成については特に制限されるものではなく、具体的には、架橋ヒアルロン酸スポンジ層のみで構成されていてもよく、あるいは、架橋ヒアルロン酸スポンジ層と一種または二種以上の他の材料からなる層、例えば、ポリマーメッシュ層、ポリマー不織布層、ポリマー編物シート層、ポリマー多孔質膜層等、とか構成されていてもよい。さらに、本発明に用いる上記架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は架橋ヒアルロン酸スポンジ層を二層以上有していてもよい。しかし、本発明の創傷被覆材に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ

材料として、好ましくは、架橋ヒアルロン酸スポンジからなる二つの層と、前記架橋ヒアルロン酸スポンジ層の層間に積層されたポリマーメッシュ層とを有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を挙げることができる。

【0034】上記本発明に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料における、架橋ヒアルロン酸スポンジ層には、創傷被覆材として使用される際に、生理活性物質が含有される。従って、上記架橋ヒアルロン酸スポンジ層には、創傷被覆材として使用されるに十分量の生理活性物質を含有できる能力を有することが望まれる。具体的には、用いる架橋ヒアルロン酸スポンジの空隙率や形状、創傷被覆材が適用される創傷の程度等にもよるが、シート状に成形される場合において、上記架橋ヒアルロン酸スポンジ層の厚さを、概ね2～20mm、好ましくは、3～5mm程度にすることにより、十分量の生理活性物質を含有することが可能となる。

【0035】また、上記架橋ヒアルロン酸スポンジ材料がその構成要素としてポリマーメッシュ層を有する場合のポリマーメッシュ層については、ポリマー素材をメッシュ状に成形したものからなるポリマーメッシュ層であれば特に制限されない。ポリマーメッシュを構成するポリマー素材としては、メッシュ状に成形することが可能な素材であれば、特に制限されないが、具体的には、ポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステル等が挙げられる。これらのうちでも、本発明においてはポリアミドが好ましく用いられる。また、本発明に用いるポリマーメッシュのメッシュ幅として、具体的には、100～300メッシュ程度、好ましくは200～300メッシュ程度が挙げられる。メッシュ幅が100メッシュ未満だと、創面に適用した際にメッシュが新生組織内に埋入することがあり、300メッシュを越えると網目が微小となりスポンジ層とメッシュの接着性が低下することがある。

【0036】本発明に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を構成するポリマーメッシュ層の厚さとしては、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の形状や架橋ヒアルロン酸スポンジ層の厚さ等にもよるが、シート状にして用いる場合には、概ね0.2～1.0mm、好ましくは、0.3～0.5mm程度とすることができる。

【0037】本発明の創傷被覆材に好ましく用いられる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料においては、上記架橋ヒアルロン酸スポンジ層は、この様なポリマーメッシュ層を挟み込んでその両側に積層される。この場合の架橋ヒアルロン酸スポンジ層の厚さについても、上記に説明した架橋ヒアルロン酸スポンジ層の厚さと同様にすることができる。また、ポリマーメッシュ層の両側で異なってもよく、同じであってもよい。

【0038】また、本発明の創傷被覆材に好ましく用いられる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料において、架橋ヒアルロン酸スポンジ層とポリマーメッシュ層を積層する

方法であるが、特に制限されず、単に架橋ヒアルロン酸スポンジ層／ポリマーメッシュ層／架橋ヒアルロン酸スポンジ層の順に3層を重ね合わせることで積層体とすることも可能であり、また、例えば、加圧や接着剤を用いる等により各層同士を緩やかにあるいは強固に結合して積層体とすることも可能である。

【0039】なお、これらの積層方法は、架橋ヒアルロン酸スポンジ層と、ポリマーメッシュ層以外の他の材料からなる層との積層においても同様に用いることが可能である。

【0040】さらに、この様な架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は、上述した(A)～(D)工程を含む架橋ヒアルロン酸スポンジの製造方法において、(A)工程で、混合液を濃縮する前に、この混合液をポリマーメッシュを中間に挟み込むかたちでポリマーメッシュと共に成形用容器に導入する工程を設ける以外は、上記架橋ヒアルロン酸スポンジの製造方法と全く同様の工程を用いて製造することが可能である。

【0041】上記成形用容器は、最終的に得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の形状に合わせて適宜選択される。例えば、成形用容器の形状は得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料が、シート状、棒状等になる様な形状とすることができる。

【0042】また、前記ポリマーメッシュと混合液を成形用容器に導入する方法は、シート状の架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を作製する場合には、例えば、まず成形用容器にポリマーメッシュを挟む一方の側の架橋ヒアルロン酸スポンジ層の厚さを勘案して適当量の混合液を注入し、その上にポリマーメッシュを置き、さらにその上にポリマーメッシュを挟むもう一方の側の架橋ヒアルロン酸スポンジ層の厚さを勘案して適当量の混合液を注入する方法が挙げられる。

【0043】この様な製造方法を用いることにより、架橋ヒアルロン酸スポンジ層の形成と前記架橋ヒアルロン酸スポンジ層とポリマーメッシュ層との積層が同時に行われるばかりでなく、これにより得られる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は多孔性や機械的強度に優れるものである。

【0044】次に、この様な架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質を含む本発明の創傷被覆材について説明する。

## (2) 本発明の創傷被覆材

本発明の創傷被覆材は、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質とを含むことを特徴とする。

【0045】本発明に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料については、上記(1)で説明した通りである。また、本発明の創傷被覆材に用いる生理活性物質として、具体的には、ジブチルサイクリックAMP、表皮細胞増殖因子等を挙げることができる。これら生理活性物質は、公知の方法で製造することが可能であり、あるいは

は、市販もされているのでこの様な市販品を本発明に用いることも可能である。

【0046】本発明の創傷被覆材において、上記生理活性物質は、具体的には、架橋ヒアルロン酸スポンジ層に含有されるかたちで用いることが可能であり、さらに、生理活性物質は、好ましくは、使用時に架橋ヒアルロン酸スポンジ層に含有される。この場合には、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と生理活性物質は、使用時までは別々の状態であって使用時に初めて一体化されるが、本発明の創傷被覆材には、この様な形態が含まれるものとして理解されるべきである。

【0047】なお、生理活性物質を使用時に含有されることが好ましいのは、生理活性物質が一般的に、不安定であって、滅菌操作や乾燥状態における長期保存が困難な為である。しかし、生理活性物質が安定性を有する場合には、この限りではなく、生理活性物質を予め、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の架橋ヒアルロン酸スポンジ層に添加しておくことが可能である。生理活性物質の架橋ヒアルロン酸スポンジ層への添加は、通常、水溶液のかたちで行われる。水溶液濃度は、生理活性物質の種類等に応じて、適宜選択されるものである。また、生理活性物質水溶液には、必要に応じて、生理活性物質以外の物質が含まれていてもよく、その様な物質として、具体的には、一般に注射液等に含まれる薬学的に許容される各種化合物等を挙げることができる。

【0048】例えば、本発明において好ましく用いられる、架橋ヒアルロン酸スポンジからなる二つの層と前記架橋ヒアルロン酸スポンジ層の層間に積層されたポリマーメッシュ層とを有する架橋ヒアルロン酸スポンジ材料と、ジブチルサイクリックAMPとからなる創傷被覆材を創面に適用する場合には、ジブチルサイクリックAMPの約0.1～2.0%水溶液を、前記架橋ヒアルロン酸スポンジ材料が治療されるべき創面を被覆するかたちで適用される直前か直後に、架橋ヒアルロン酸スポンジ層に注射器等を用いて注入する等して、本発明の創傷被覆材は使用される。

【0049】架橋ヒアルロン酸スポンジは、それ自体は非水溶性であるが、スポンジ構造を有することから吸水能力を有し、それにより生理活性物質の水溶液を保持することが可能となり、優れた創傷治癒効果を発揮することが可能となる。また、上記好ましい製造方法で得られた架橋ヒアルロン酸スポンジからなる架橋ヒアルロン酸スポンジ層においては、空隙率が高く、機械的強度に優れることから、生理活性物質水溶液の吸収性、保持能に優れるものである。

【0050】さらに、本発明において好ましく用いられる中間層にポリマーメッシュを組み込んだ架橋ヒアルロン酸スポンジ材料においては、ポリマーメッシュが架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の機械的強度の向上に大きく貢献して、縫合や医療用ホッチキスの使用等を可能にし

ているばかりでなく、それ自体、半閉鎖型の創傷被覆材として機能して、創面から出る体液等の流出を阻止する等により、本発明の創傷被覆材の優れた創傷被覆効果に寄与している。

【0051】本発明の創傷被覆材が適用される創傷については、特に制限されるものではなく、熱傷、褥瘡、難治性皮膚潰瘍等の創傷に広く適用可能である。また、本発明の創傷被覆材を創傷に適用する方法は、従来の創傷被覆材を創傷に適用する方法と同様の方法とすることができる。また、本発明の創傷被覆材を防水透湿性を有する他の創傷被覆材、例えば、ポリウレタンフィルム製創傷被覆材等と組み合わせて用いることにより、生理活性物質の水溶液を適度に創面に貯留させることができるとなる。

【0052】本発明の創傷被覆材を用いて創傷の治療を行えば、生理活性物質を軟膏等に配合して投与する従来の方法と比べて、患者の苦痛も少なく、且つ簡便であり、治療効果も同等以上であると言える。

#### 【0053】

【実施例】以下に本発明の実施例を説明する。まず、本発明の創傷被覆材に用いる架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の製造例について説明する。

#### 【0054】

【製造例1】架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の製造  
ヒアルロン酸（分子量200万、紀文フードケミファ製）30gをpH6のイオン交換水2Lに溶解して1.5%ヒアルロン酸水溶液を作製した。このヒアルロン酸水溶液に水溶性エポキシ化合物（EX810：エチレングリコールジグリシジルエーテル）をヒアルロン酸の繰り返し単位1モルに対して1/5モルの割合で添加して攪拌した。得られた混合液の42.7mLを、直径9cmのプラスチックシャーレに注入し、その上に直径9cmの300メッシュのナイロンメッシュ（厚さ：0.2mm）を載せ、さらにナイロンメッシュの上に前記混合液の42.7mLを注入し、次いでこれを50℃で8時間静置することで、ナイロンメッシュの上下の混合液の体積が初期体積の約1/5になるまで濃縮した。こうして、前記ヒアルロン酸の分子間架橋物の中間層にナイロンメッシュが積層された積層体を得た。

【0055】得られた積層体を-85℃、10mmHgで48時間の凍結真空乾燥を行い積層体のヒアルロン酸分子間架橋物層をスポンジ状にした。次いで、この積層体をシャーレから取り外し、多量のメタノール中で、約24時間、攪拌洗浄して未反応の水溶性エポキシ化合物を除去した。メタノール洗浄後、積層体をメタノールから取り出し、スポンジ内に含まれているメタノールをペーパタオルで除去し、次いで多量のイオン交換水中で、約24時間、攪拌洗浄した。ここで、メタノール洗浄および水洗浄に用いるメタノールおよび水の量は、上記積層体10枚に対して1L程度が適当である。

【0056】水洗浄後、ヒアルロン酸分子間架橋物層に適量のイオン交換水を含んだ積層体をプラスチックシャーレに戻し、再度-85℃、10mmHgで48時間の凍結真空乾燥により架橋ヒアルロン酸スポンジからなる二つの層間にナイロンメッシュが積層された架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を作製した。

【0057】得られた架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は、架橋ヒアルロン酸スポンジ部分が含水状態の際の形状を維持したまま乾燥されたものであり空隙率が高く、ナイロンメッシュを内蔵しているため十分な機械的強度を有するものであった。

#### 【0058】

#### 【実施例1】創傷被覆材

上記製造例で得られた架橋ヒアルロン酸スポンジ材料とジブチルサイクリックAMPとを含む創傷被覆材を以下に示す動物実験において使用時に作製して、創傷治療効果の評価を行った。

<動物実験1>SDラットの背部に直径3cmの全層皮膚欠損創を作製した。上記製造例で得られた架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を直径3cmに切り取り、これを前記全層皮膚欠損創に適用して、一般的な縫合方法により創周辺と縫合固定した。なお、製造例の架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は、ナイロンメッシュが組み込まれているため創周辺との縫合が十分に可能な機械的強度を有していた。この架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の架橋ヒアルロン酸スポンジ層にジブチルサイクリックAMP粉末300mgを10mlの注射液に溶解した溶液の2mlを注射器を用いて注入、含浸させた。これにより、創面に本発明の創傷被覆材が適用されたことになる。さらに、この上にバイオクルーシブ（ポリウレタンフィルム製創傷被覆材（商品名：J&J製））を適用し、滅菌ガーゼを載せた上から伸縮性包帯で固定した。本発明の創傷被覆材適用の2週間後に、これを取り外して創面を観察した。

【0059】また、対照実験として、上記本発明の創傷被覆材の替わりに、製造例の架橋ヒアルロン酸スポンジ材料のみ、または、ソープサン（アルギン酸カルシウム塩創傷被覆材）を用いた以外は、上記と全く同様にして、各種創傷被覆材の動物の皮膚欠損創への適用実験を行った。

【0060】結果は、本発明の創傷被覆材を適用したラットは、適用2週間後の観察で、顕著な肉芽組織形成とそれに伴う創面積の減少（創面積は直径約1.2cmまでに減少）が認められた。また、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料のみを適用したラットも、適用2週間後の観察で、顕著な肉芽組織形成とそれに伴う創面積の減少（創面積は直径約2cmまでに減少）が認められたが、上記本発明の創傷被覆材を適用したラットと比較すると創傷治癒の程度は明らかに低かった。さらに、ソープサン適用のラットは、適用2週間後には、創周辺とほぼ同じ高

さまで肉芽組織が形成されたが創面積は大きく変化していなかった（創面積の直径は約2.8cmであった）。

さらに、アルギン酸線維が一部創面に残留しやや白色を呈しているのが観察された。

【動物実験2】SDラットの腹部に直径3cmで中央に直径5mmの皮膚を温存した全層皮膚欠損創を作製した。上記と同様に上記製造例で得られた架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を直径3cmに切り取り、これを前記全層皮膚欠損創に適用して、一般的な縫合方法により創周辺と縫合固定した。なお、上記製造例の架橋ヒアルロン酸スポンジ材料は、ナイロンメッシュが組み込まれているため創周辺との縫合が十分に可能な機械的強度を有していた。この架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の架橋ヒアルロン酸スポンジ層にジブチルサイクリックAMP粉末300mgを10mlの注射液に溶解した溶液の2mlを注射器を用いて注入、含浸させた。これにより、創面に本発明の創傷被覆材が適用されたことになる。

【0061】さらに、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料の上にバイオクルーシブ（ポリウレタンフィルム製創傷被覆材（商品名：J&J製））を適用し、その上から伸縮性包帯で固定した。架橋ヒアルロン酸スポンジ材料適用の1週間後に、これを取り外して創面を観察した。観察後、再度上記と同様に架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を適用しその1週間後（実験開始2週目）に、再び創面を観察した。

【0062】また、対照実験として、上記実験において本発明の創傷被覆材とバイオクルーシブを組合せて適用する替わりに、製造例の架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を適用しその上にバイオクルーシブを組合せて、または、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を適用せずにバイオクルーシブのみを用いた以外は、上記と全く同様にし

て、各種創傷被覆材の動物の皮膚欠損創への適用実験を行った。

【0063】結果は、本発明の創傷被覆材を適用したラットは、適用1週間後の観察で、肉芽組織形成とそれに伴う創面積の減少と中央島状皮膚の拡大（直径約10mmまでに拡大）が認められ、2週間後の観察では、創はほぼ閉鎖され中央島状皮膚の拡大が認められた。また、架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を適用したラットは、適用1週間後の観察で、肉芽組織形成とそれに伴う創面積の減少と中央島状皮膚の拡大（直径約7mmまでに拡大）が認められ、2週間後の観察では、創はほぼ閉鎖され中央島状皮膚の拡大が認められたが、上記本発明の創傷被覆材を適用したラットと比較すると創傷治癒の程度は明らかに低かった。

【0064】さらに、バイオクルーシブと伸縮包帯のみのラットは、1週間後の観察で、肉芽組織形成が認められず、2週間後の観察では、肉芽組織形成がわずかに認められたものの、中央島状皮膚の拡大は認められなかつた。

【0065】これらの結果から、本発明の創傷被覆材は、架橋ヒアルロン酸スポンジ層の有する高い吸水性と保水性により優れた創傷治癒能力を有することが明らかである。さらに、中間層にポリマーメッシュを組み込んだ架橋ヒアルロン酸スポンジ材料を用いれば、創周辺への縫合も行うことが可能であり、さらに創傷被覆材の生理活性物質保持能を向上させることができ、治療効果への貢献も大きいことがわかった。

#### 【0066】

【発明の効果】本発明の創傷被覆材を用いれば、生理活性物質を用いた皮膚欠損創等の創傷の治療を簡便かつ有効に行うことが可能である。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**